ESTRATTO

Vol. XXI Ottobre 1935 Num. 5

Bimestrale C. C. con la Posta

ARCHIVIO
DI
SCIENZE BIOLOGICHE

(ORGANO UFFICIALE DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA SPERIMENTALE)

Fisiologia - Farmacologia - Patologia sperimentale

PUBBLICATO DA

FILIPPO BOTTAZZI

BVONI VOLER SANITA COL

GIULIO VANZETTI

L'azione tonomeiotica delle proteine e l'influenza degli ioni antagonisti.

BOLOGNA - LICINIO CAPPELLI - EDITORE

L'AZIONE TONOMEIOTICA DELLE PROTEINE E L'INFLUENZA DEGLI IONI ANTAGONISTI.

Di Giulio Vanzetti.

(*Dall'Istituto di Patologia Medica della R. Università di Milano*).

È noto da parecchio tempo, per merito sopratutto di Bottazzi e della sua scuola, che l'azione tonomeiotica (batotona) delle proteine, in assenza di sali inorganici, presenta un massimo al punto isoelettrico. Cito al riguardo le parole dello stesso Bottazzi (1, pag. 489): « ... le proteine abbassano massimamente la tensione superficiale del solvente quando vi si trovano disciolte allo stato di molecole indissociate ». (Oggi diremmo elettroneutre, in base alla teoria degli ioni anfoteri).

Tra i fattori sin'ora invocati per spiegare questo comportamento, non mi risulta sia stata presa in considerazione l'azione degli ioni antagonisti, che ritengo invece possa avere un'importanza fondamentale. Ad uno spostamento *indipendente* degli ioni proteici o di quelli antagonisti, fa infatti contrasto lo stabilirsi di un potenziale elettrico, per cui gli ioni di segno opposto sono trascinati od impediti nel loro movimento. È da tenere presente che ad ogni ione proteico polivalente possono fare equilibrio parecchi ioni antagonisti inorganici.

Ricordo alcune applicazioni già note. Nel caso di un equilibrio osmotico di Donnan, il potenziale elettrico (potenziale di membrana) è direttamente misurabile, e porta alla legge di Donnan sulla distribuzione degli ioni diffusibili ai due lati della membrana: gli ioni proteici trattengono una parte degli ioni antagonisti al di qua di essa (azione d'ostacolo).

Nel caso della sedimentazione in campi di forza centrifuga molto intensa (Svedberg), gli ioni antagonisti *frenano* la sedimentazione degli ioni proteici (Tiselius, 2) sia per la loro scarsa sedimentabi-

lità, sia per la loro maggiore diffusibilità in confronto alle molecole proteiche.

La velocità di diffusione degli ioni proteici è maggiore, spesso anche molto maggiore, di quella delle molecole neutre (Mc Bain, Dawson e Barker, 3): ciò è verosimilmente dovuto all'azione di trascinamento degli ioni inorganici antagonisti, la cui velocità di diffusione è, come è noto, assai maggiore di quella degli ioni proteici. L'equilibro di sedimentazione è dato dall'equilibrio tra sedimentazione e diffusione: causa la più rapida diffusione e la minore sedimentabilità degli ioni proteici, ad equilibrio raggiunto il gradiente di concentrazione e la sedimentazione risultano minori per essi in confronto alle molecole proteiche elettroneutre (apparente aumento del peso molecolare (Tiselius, 4).

Si vede quindi come nei fenomeni puramente dinamici (sedimentazione e diffusione) gli ioni antagonisti possano esercitare a seconda dei casi un'azione di trascinamento (diffusione) ovvero di freno (sedimentazione): l'equilibrio fra i due fenomeni (equilibrio di sedimentazione) ne risulta spostato. Perciò al punto isoelettrico la velocità di sedimentazione delle molecole proteiche presenta un massimo, la velocità di diffusione un minimo, e il gradiente di concentrazione nell'equilibrio di sedimentazione ancora un massimo.

Considerazioni affatto analoghe si possono applicare alla tensione superficiale delle soluzioni proteiche, considerata dal doppio punto di vista (t. s. dinamica) e di equilibrio (t. s. statica).

Come nel caso della sedimentazione, abbiamo qui a che fare con una forza (quella responsabile dell'adsorbimento alla superficie), cui si oppone la diffusione delle molecole verso l'interno della soluzione, che tende a ristabilire l'equilibrio di concentrazione (e l'equilibrio osmotico).

L'adsorbimento alla superficie è *rallentato* causa la scarsa tensioattività degli ioni inorganici antagonisti, l'attrito da essi frapposto allo spostamento verso la superficie, e principalmente la loro tendenza a ridiffondere verso l'interno della soluzione. Perciò la t. s. dinamica deve essere minore per gli ioni proteici carichi di elettricità che per le molecole elettroneutre.

L'equilibrio di Gibbs per la t. s. statica va interpretato come un equilibrio fra adsorbimento alla superficie e diffusione verso l'interno della soluzione: se la diffusione è accelerata dagli ioni antagonisti, l'adsorbimento e l'azione tonomeiotica debbono essere minori. L'abbassamento della t. s. in confronto al solvente puro (sia valore sta-

tico come dinamico) sarà quindi tanto maggiore quanto minore sarà l'azione degli ioni antagonisti, ossia quanto più saremo vicini al punto isolelettrico, in cui l'azione tonomeiotica è massima.

In pratica, un fenomeno di cui è difficile valutare l'influenza complica notevolmente le cose: la denaturazione delle molecole proteiche adsorbite alla superficie. La t. s. dinamica misurata mediante lo stalagmometro di Traubex non dovrebbe risentirne, poichè il tempo di formazione delle goccie è assai breve; la t. s. statica ne risente certamente. Comunque, se anche la teoria quantitativa di Gibbs non può essere valida, è chiaro che gli ioni antagonisti, assai diffusibili e poco tensioattivi, debbono tendere a trascinare gli ioni proteici dalla superficie verso l'interno della soluzione.

Gli ioni antagonisti possono influenzare anche per altra via, ed in senso opposto, la tensioattività degli ioni proteici, col diminuirne la carica libera ed il potenziale.

È noto che se si aggiunge una quantità crescente di acido e d'alcali ad una soluzione proteica demineralizzata, la t. s. dopo aver raggiunto un massimo, torna a diminuire. Questo ulteriore abbassamento va attribuito ad una diminuzione della carica elettrica *libera* delle molecole proteiche (parziale *inattivazione* della carica elettrica: ciò che una volta si chiamava « retrocessione della dissociazione ») per azione degli ioni antagonisti in eccesso. Diminuendo la carica libera, diminuirà anche il potenziale elettrico degli ioni proteici, e quindi sarà maggiore la loro azione tonomeiotica. A risultati analoghi può portare l'aggiunta di sali neutri o di altri tamponi, sempre per l'azione inattivante delle cariche di segno opposto. Naturalmente, bisognerà anche tener presente la possibilità d'un adsorbimento elettivo degli ioni, ecc.

Per concludere, la carica elettrica delle molecole proteiche è la causa prima della minore azione tonomeiotica all'infuori del punto isoelettrico. Gli ioni inorganici presenti in soluzione, ed in particolare gli ioni antagonisti, concorrono a determinare la t. s. della soluzione, sia influenzando direttamente la carica ed il potenziale degli ioni proteici, sia agendo sulla loro mobilità e sul loro adsorbimento allo scopo di mantenere l'equilibrio osmotico ed elettrostatico (azione deadsorbente).

Presento questa interpretazione da un lato come atta a spiegare in maniera plausibile la parte fondamentale dei fenomeni già noti, dall'altro come ipotesi da lavoro. Essa può essere estesa anche ad altre sostanze tensioattive di minore peso molecolare (acidi grassi

solubili, ecc.), valorizzando l'influenza degli ioni antagonisti sulle molecole dissociate.

Ricorderò infine come, fra i metodi proposti per stabilire il punto isoelettrico delle proteine, la misura della t. s. dinamica a vario pH (ad esempio mediante lo stalagmometro di TRAUBE) è indubbiamente, se non il più preciso, uno dei più semplici: ora sopratutto che ne sembra chiarito il significato teorico, esso meriterebbe d'essere preso nella maggiore considerazione dagli studiosi.

RIASSUNTO.

1°) La minore tensioattività degli ioni proteici in confronto alle molecole elettroneutre può spiegarsi in base all'azione adsorbente negativa degli ioni antagonisti, che sono legati per via elettrostatica agli ioni proteici.

2°) Il meccanismo di quest'azione si deve esplicare attraverso lo stabilirsi d'un potenziale elettrico, così come avviene nel caso degli equilibri di membrana, nella sedimentazione, nella diffusione e nell'equilibrio di sedimentazione.

3°) Gli ioni antagonisti tendono a frenare l'adsorbimento alla superficie degli ioni proteici e a trascinarli verso l'interno della soluzione allo scopo di ristabilire l'equilibrio osmotico e di concentrazione. La loro azione può esercitarsi, quindi, sia sulla t. s. statica, sia su quella dinamica.

4°) La denaturazione delle molecole proteiche superficiali, mentre ha certo un'importanza notevole per le misura della t. s. statica, ne ha probabilmente una trascurabile sulle misure della t. s. dinamica (stalagmometro di TRAUBE).

5°) Gli ioni antagonisti possono anche esercitare un'influenza potenziale, e condurre per questa via (aggiunta di sali neutri, o d'un eccesso d'acido o d'alcali) ad un *aumento* dell'azione tonomeiotica delle soluzioni proteiche.

6°) L'interpretazione proposta può venire estesa alle sostanze tensioattive ionizzabili di minore peso molecolare (acidi grassi solubili, ecc.).

7°) Si richiama l'attenzione sulla misura della t. s. dinamica a vario pH (stalagmometro di TRAUBE) come metodo semplice per la determinazione del punto isoelettrico delle proteine.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Bottazzi F. - Azione tonomeiotica delle proteine e teoria dell'azione delle sostanze tonomeiotiche in generale. Questo *Archivio*, 1927, **10**, 456.

(2) Tiselius A. - *Koll.-Ztschr.*, 1932, **59**, 306.

(3) Mc Baid J. B., Dawson C. R., Barcker H. A. - *J. Amer, Chem. Soc.*, 1934, **56**, 1021.

(4) Tiselius A. - *Ztschr. physik. Chem.*, 1926, **124**, 449.